

GC-MS/MS를 이용한 참기름 중 Ethylene oxide 분석

Analysis of Ethylene oxide in sesame oil using GC-MS/MS

■ 서론

유럽연합(이하 EU)은 2020년 9월 인도에서 수입된 참깨에서 비승인 물질인 에틸렌 옥사이드(Ethylene oxide, 이하 EO)가 EU 잔류물 허용치 (0.05 mg/kg) 이상으로 검출되는 사례가 발생한 이후 인도산 참깨에 대해 엄격한 수입 통관 검사를 철저히 시행하고 있다¹⁾.

국내의 경우, 식약처 보도자료²⁾에 따르면 작년 8월 유럽으로 수출되는 일부 라면제품에서 EO의 대사산물인 2-Chloroethanol(이하 2-CE)이 검출되는 사례가 발생하여 일부 식품에 대해 2-CE의 잠정기준을 마련하고 검출된 업체에 대해서는 '검사명령' 등을 실시하는 등의 사후 조치를 시행하였다.

EO는 무색의 달콤한 냄새가 나는 물질로 주로 캐나다, 미국 등에서 박테리아 병원체를 포함한 미생물이나 해충을 제어하기 위한 훈증제로 허가된 물질이다. 하지만 돌연변이를 유발할 수 있고 발암성을 가지고 있기 때문에 EU에서는 살충제의 사용을 금지하고 있다³⁾. 또, 2-CE는 EO가 염화물과 같은 친핵체와 반응하면 생성되는 대사물질로 현재 EU에서는 EO의 잔류물의 정의를 EO와 2-CE의 합으로 지정하고 있다.

이와 관련해 EU Reference Laboratories for Residual of Pesticides-Single Residue Method (EURL-SRM)에서는 참깨(Sesame seeds) 중 EO 및 2-CE 분석 방법을 제공하고 있다. 해당 시험법은 일반적인 시료는 QuEChERS법으로 추출하며, 건조하고 오일함량이 높은 시료는 QuOil법으로 추출하여 별도의 가수분해없이 EO와 2-CE를 동시에 분석하는 것으로 하고 있다. 또, 이때 추출 용매인 아세토나이트릴과 잔류수분이 GC의 컬럼과 MS의 필라멘트에 미치는 부정적인 영향으로 생길 수 있는 문제를 해결하기 위해 온도 프로그래밍이 가능한 주입구인 Programmable Temperature Vaporization (이하 PTV)를 사용하여 이 영향을 최소화하는 방법을 제안하고 있다.

이에 본 뉴스레터에서는 EURL-SRM(참깨 중 EO 및 2-CE 분석 방법)¹⁾을 바탕으로 QuOil 전처리법과 PTV가 장착된 GC-MS/MS를 이용해 참깨가 주성분인 참기름에 대해 잔류 EO 및 2-CE 분석을 소개하고자 한다.



그림 1. GC-MS/MS System

■ 기기분석 조건

PTV가 장착된 GC-MS/MS를 이용하였으며, 분석조건은 표 1, 2에 나타내었다.

표 1. GC-MS/MS 분석조건

Gas Chromatography	
system	: Nexis GC-2030
Column	: DB-624 (60 m x 0.25 mm, 1.4 μm)
Carrier gas	: He (99.999%)
Column Flow	: 1.5 mL/min
Injection mode	: Split (4:1)
Flow control	: Linear velocity (31.3 cm/sec)
Oven temp.	: 45 °C (2 min) → 25 °C/min → 250 °C (5 min)
Injection volume	: 1 μL
PTV system	
Injection temp.	: 90 °C (0.8 min) → 230 °C/min → 250 °C (10 min)
Mass spectrometry	
system	: TQ8050
Ionization mode	: EI
Interface Temp.	: 320 °C
Ion Source Temp.	: 230 °C
Acquisition Mode	: MRM

표 2. EO, EO-D₄, 2-CE 및 2-CE-d₄의 분석 조건

성분	정량이온 (m/z)	CE (V)	정성이온 1 (m/z)	CE (V)	정성이온 2 (m/z)	CE (V)
EO	44.00>29.00	5	44.00>28.00	5	44.00>14.00	20
EO-d ₄	48.00>30.00	5	48.00>16.00	20	-	-
2-CE	80.00>31.00	5	80.00>43.00	5	82.00>31.00	5
2-CE-d ₄	84.00>33.00	5	86.00>33.00	5	-	-

■ 표준물질 및 검정곡선 작성

표준물질은 EO와 2-CE를 사용하였고 내부표준법을 이용한 검정곡선을 작성하기 위해 내부표준물질 EO-D₄, 2-CE-D₄을 이용하였다. 검정곡선 작성을 위한 표준물질은 Matrix matched 표준용액을 사용하였으며, EO와 2-CE 의 최종 농도가 2.5, 5, 10, 25, 50 ng/mL 수준이 되게 하였다. 내부표준물질은 EO-D₄, 2-CE-D₄의 최종 농도가 10 ng/mL 수준이 되게 첨가하여 사용하였다.

■ 시료 조제 방법

시료는 시판되고 있는 참기름을 사용하였으며, 참기름 시료 2 g을 이용해 그림 2의 QuOil 방법으로 추출하였다. 추출물은 표 1, 2의 조건으로 GC-MS/MS로 분석하였다. QuOil 방법은 QuEChERS 방법과 달리 추출용매를 넣은 뒤 QuEChERS salts를 넣지 않고 추출하는 방식이다.

QuOil Extraction (CEN/TS 17062:2019 modified)

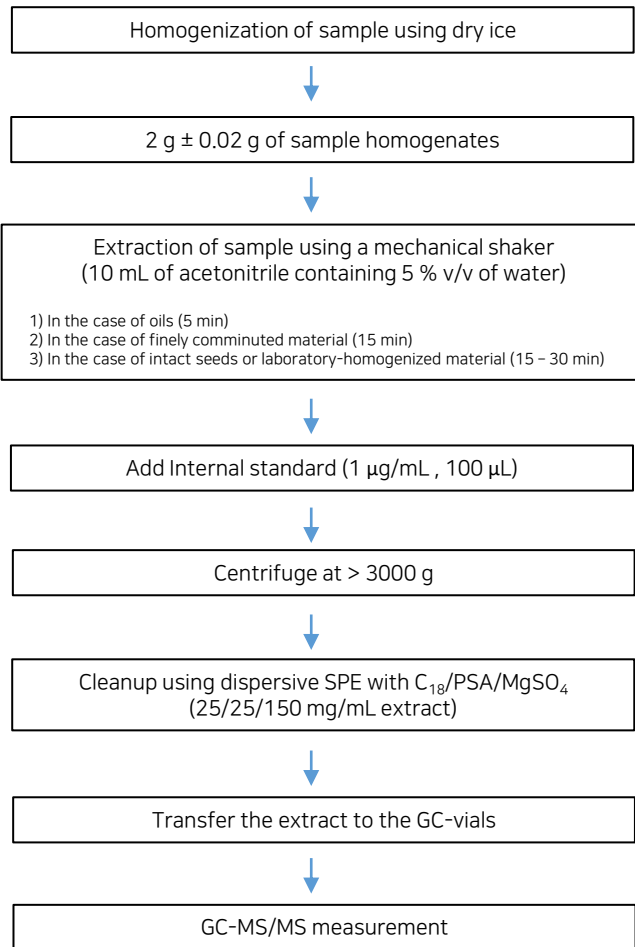


그림 2. QuOil법의 Flow chart.

■ 검정곡선

EO와 2-CE의 검정 곡선 결정계수는 $R^2 > 0.99$ 로 확인되었으며, 이 때의 EO 및 2-CE의 50 ng/mL 농도 수준의 크로마토그램은 그림 4와 같다.

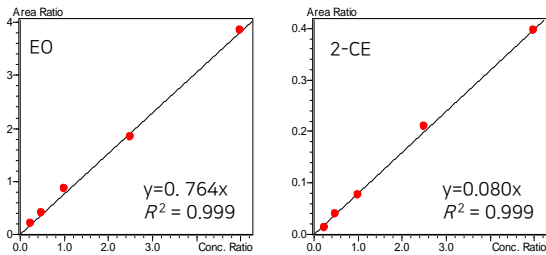


그림 3. EO 및 2-CE의 검량선

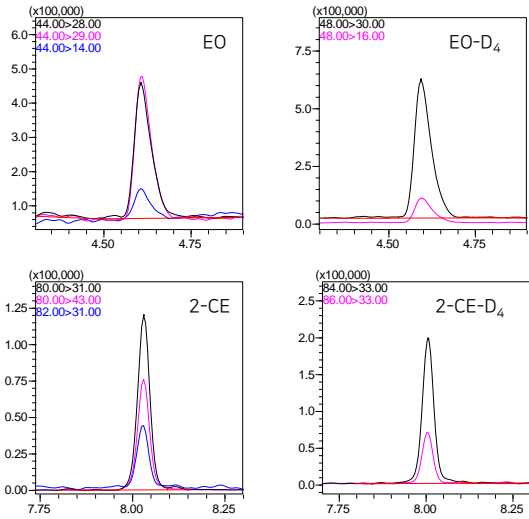


그림 4. Chromatograms of EO, 2-CE, EO-D₄ and 2-CE-D₄ (standard 50 ng/mL)

■ 정확도 및 정밀도

정확도 및 정밀도는 정량한계 수준 (5 ng/mL) 농도의 QC 용액을 조제하여 7회 반복 측정된 것으로 산출하였으며, 표 3에서 보는 것과 같이 EO의 정확도 및 정밀도(% RSD, $n=7$)는 98.9 %, 5.6 %로 나타났으며, 2-CE의 정확도 및 정밀도(% RSD, $n=7$)는 105.4 %, 6.1 %로 나타났다.

표 2. 정확도와 정밀도 측정 결과 ($n=7$)

No.	EO		2-CE	
	농도 (ng/mL)	정확도 (%)	농도 (ng/mL)	정확도 (%)
1	4.5	90.6	4.9	97.5
2	4.6	92.7	4.9	98.2
3	5.0	100.6	5.5	110.8
4	4.9	98.4	5.5	110.3
5	5.1	101.8	5.5	109.7
6	5.3	106.6	5.0	100.2
7	5.1	101.3	5.6	111.1
평균	4.9	98.9	5.3	105.4
% RSD		5.6		6.1

■ 회수율 시험

회수율 시험은 EO, 2-CE 표준용액을 이용해 참기를 시료에 최종 농도 25 ng/mL 수준이 되게 첨가하여 4 반복 분석하여 평가하였으며, 표 3에서 보는 것과 같이 EO는 (80.7-94.8) %, 2-CE는 (107.2-119.5) % 수준으로 나타났다. 이 때, RSD(%)는 각각 6.7 %, 5.3 %로 확인되었다.

표 3. 회수율 시험 평가 결과 ($n=4$)

No.	EO		2-CE	
	첨가농도 (ng/mL)	회수율 (%)	첨가농도 (ng/mL)	회수율 (%)
1	23.7	94.8	27.3	109.2
2	22.1	88.3	26.8	107.2
3	20.2	80.7	29.9	119.5
4	21.5	85.9	26.9	107.6
평균	21.9	87.4	27.7	110.9
% RSD		6.7		5.3

■ 결론

본 뉴스레터는 Shimadzu GCMS-TQ8050NX를 이용하여 EURL-SRM(참깨 중 EO 및 2-CE 분석 방법)¹⁾을 바탕으로 참기를 중 잔류 EO 및 2-CE의 분석법을 검토하였다. EO와 2-CE의 검정곡선 결정계수(R^2)는 0.99 이상으로 나타났다. 회수율 시험에서는 평균 회수율이 EO는 87.4 %, 2-CE는 110.9 %로 나타났으며, RSD(%)는 6.7 %, 5.3 %로 나타났다.

■ 참고문헌

- 1) EURL-SRM - Analytical Observations Report, Analysis of Ethylene Oxide and its Metabolite 2-Chloroethanol by the QuOil or the QuEChERS Method and GC-MS/MS, 2020 https://www.eurl-pesticides.eu/library/docs/srm/EurlSrm_Ethanol_EO_V1.pdf
- 2) 식품의약품안전처 보도자료 식약처, 라면 2-클로로에탄올(2-CE) 검사 결과 발표, 2021
- 3) Thomas Bessaire et al, Analysis of ethylene oxide in ice creams manufactured with contaminated carob bean gum (E410), Food additives & contaminants: Part A, Vol. 38 No.12, 2116-2127, 2021